应用改良 No-touch 技术建立兔颈总动脉-颈外静脉内瘘模型

刘振 王晓禾 王加英 张元元 侯国存*

南京医科大学附属苏州科技城医院肾内科，苏州，215153

刘振和王晓禾为共同第一作者

*通讯作者：侯国存 Email: houguocun2007@163.com

【摘要】 目的 探索应用改良 No-touch 技术建立兔颈总动脉-颈外静脉内瘘模型的可能性。 **方法** 2021 年 02 月 08 日至 2021 年 02 月 22 日，将 10 只雄性新西兰兔随机等分为实验组与假手术组。实验组在内瘘手术时不剥离静脉周围组织，即改良 No-touch 技术处理颈外静脉，建立颈总动脉-颈外静脉内瘘。假手术组探查到血管后不吻合血管。术后 14 d 使用 CDU 评估内瘘血管内径及血流频谱变化、苏木精 - 伊红（H-E）染色观察动静脉内瘘建立后内膜增生情况，并取兔颈外静脉血行血气分析。 **结果** 实验组兔均顺利成功完成动静脉内瘘手术，成功率 100%。术后 14 d CDU 评估结果显示实验组兔颈外静脉较假手术组明显扩张(P=0.016)、收缩期峰值流速（PSV）明显增加（P=0.015）。在实验组兔内瘘动脉及流出道静脉观察到“双向血流”频谱，提示血流为螺旋层流。H-E 染色结果显示，实验组兔颈外静脉内弹力膜破坏、内膜厚度较假手术组明显增加（P<0.001）。实验组兔颈外静脉血 PO_2 较假手术组明显升高（P=0.006）。**结论** 应用改良 No-touch 技术可成功建立兔颈总动脉-颈外静脉内瘘，成功率高，重复性好，为进一步研究改良 No-touch 技术在动静脉内瘘手术中的应用提供理想的动物模型。

【关键词】 兔；动静脉内瘘；改良 No-touch 技术；动物模型

Rabbit model of common carotid artery - external jugular vein arteriovenous fistula created by a modified no-touch technique

LIU Zhen, WANG Xiao-he, WANG Jia-ying, ZHANG Yuan-yuan, HOU Guo-cun

Department of Nephrology, The Affiliated Suzhou Science & Technology Town Hospital of Nanjing Medical University, SuZhou,215153，China

LIU Zhen and WANG Xiao-he are co-first authors.

Corresponding author: HOU Guo-cun. Email: houguocun2007@163.com

[Abstract]Objective To explore the possibility of establishing a rabbit model of common carotid artery-external jugular vein arterivenous fistula with modified no-touch technique. Methods 10 male New Zealand rabbits were randomly divided

本文系苏州市科技计划项目基金项（项目编号：SYS2020077）及苏州高新区医疗卫生科技计划项目基金项（项目编号：2020Z001）的研究成果之一。

chinaXiv:202103.00122v1

into experimental group and sham operation group. Common carotid artery-external jugular vein arterivenous fistulas were created by the modified no-touch technique in experimental group, which means the perivenous vascular tissue was not stripped off in the operation. And the vessels were not anastomosed in sham operation group. At 14 days after surgery, We used Doppler Ultrasound to evaluate the changes of arterivenous fistula vascular inner diameter and blood-flow spectrum. We used hematoxylin-eosin (H-E) staining to observe the changes of intima thickness. And we took the blood samples from the rabbit' s external jugular vein for blood gas experiment. Results In experimental group, all fistulas were successfully established. 100% success rate. 14 days after surgery, Doppler ultrasound showed that external jugular vein was significantly expanded ($P=0.016$) and peak systolic velocity (PSV) was significantly increased in experimental group ($P=0.015$). Compared with sham operation group, ultrasonographic examination of the common carotid artery and external jugular vein at 14 days after surgery showed obvious dilation of inner diameter and significantly increased of peak systolic velocity (PSV) in experimental group. The blood-flow spectrum of the common carotid artery and external jugular vein showed spiral laminar flow. H-E staining examination showed that elastic membrane of external jugular vein was destroyed and intima thickness was significantly increased in experimental group ($P<0.001$). Moreover, the PO_2 in the blood of the external jugular vein in experimental group was significantly higher ($P=0.006$). Conclusion The modified no-touch technique can successfully establish rabbit common carotid artery-external jugular vein arterivenous fistula. This model has an ideal success rate and good repeatability, which provides an ideal animal model for further research on the application of modified no-touch technique in arteriovenous fistula surgery.
[Keywords] rabbit; arteriovenous fistula; modified no-touch technique; animal model

chinaXiv:202103.00122v1

血管通路是维持性血液透析患者的生命线。与中心静脉导管及人工血管动静脉内瘘相比，自体动静脉内瘘（Arteriovenous fistula, AVF）具有较高通畅率及较少并发症，作为血液透析血管通路的主流方式在临床上广泛应用[1-3]。同时，自体 AVF 也存在较高不成熟率，常见原因为吻合口附近（小于 2 cm）静脉段狭窄[4-6]，使 AVF 血流量下降，影响血液透析效果。

利用大隐静脉进行冠状动脉旁路移植手术（Coronary artery bypass grafting，CABG）中，为减少手术操作对静脉血管的损伤，Souza 等[7]在 CABG 中，采用了一种新的获取大隐静脉技术，即 No-touch 技术，该技术可以在获取静脉组织时通过保留静脉周围 3～5 mm 的结缔组织及脂肪组织，减少对静脉血管及其滋养血管的损伤，应用该项技术后发现其移植血管的通畅率明显高于常规技术组[8-9]。近年来，No-touch 技术在 CABG 中的应用的优势已得到临床广泛认可，在 AVF 手术中也有一些应用，在游离头静脉时保留其周围 1~3 mm 的组织。通过应用 No-touch 技术建立内瘘，可以减少静脉血管损伤，提高了内瘘成熟率[10-11]。

然而，传统 No-touch 技术仍需剥离静脉周围组织（仅保留少许静脉周围组织），是否可以进一步减少静脉血管损伤呢？在临床 RC-AVF 手术中，我们观察到头静脉与桡动脉相距较近，在完全不剥离头静脉周围组织情况下，仅通过牵拉头静脉和桡动脉使两者靠近，并作侧侧吻合，即可以成功构建 RC-AVF。所以，我们拓展了传统 No-touch 技术概念，即改良 No-touch 技术—完全不剥离静脉周围结缔组织（图 1C）。本研究通过探索改良 No-touch 技术构建兔颈总动脉-颈外静脉内瘘的可行性，以便为深入研究该技术的相关机制提供可靠的动物模型。

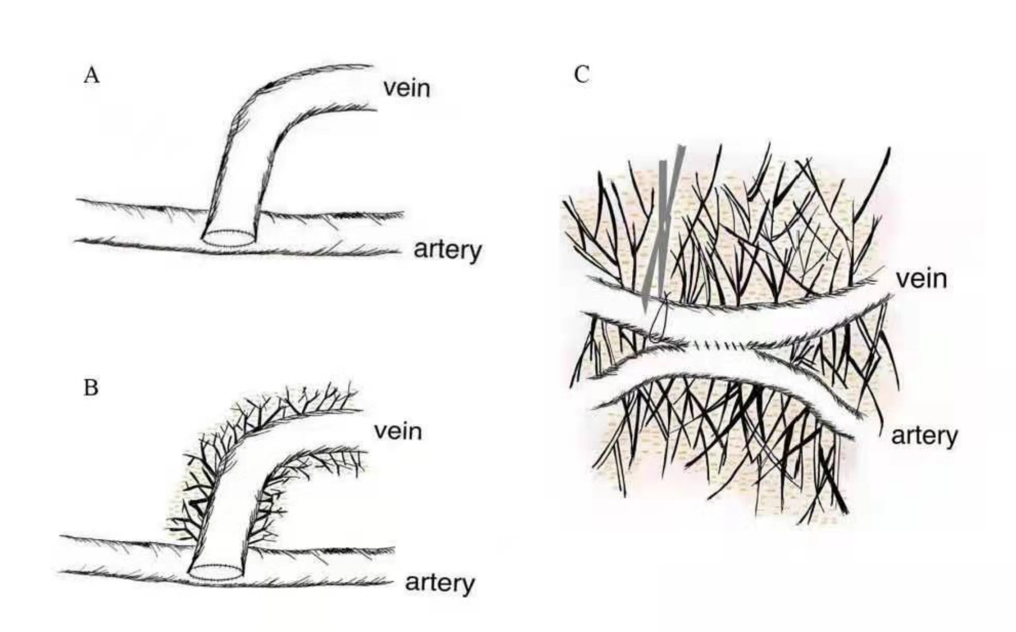


图 1. AVF 手术血管吻合方式示意图。Fig.1 Vascular anastomosis in AVF. A. 传统手术技术，完全剥离静脉周围组织，静脉-动脉端侧吻合。A. Traditional AVF surgery, the tissues surrounding the vein are stripped off completely, veno-arterial end to side anastomosis. B. 应用 No-touch 技术，保留静脉周围 1~3mm 组织，静脉-动脉端侧吻合。B. No-touch technique was used, and 1 ~ 3mm perivenous vein tissue was reserved, veno-arterial side to side anastomosis. C.应用改良 No-touch 技术，完全保留静脉周围组织，静脉-动脉侧侧吻合+静脉远端结扎手术方式（功能性端侧吻合方式）。C. Modified No-touch technique was used to completely preserve the perivenous vein tissue, veno-arterial side-to-side anastomosis + distal vein ligation (functional end-to-side anastomosis).

1,材料与方法

1.1、实验材料

2021 年 02 月 08 日至 2021 年 02 月 22 日，选取 10 只雄性新西兰兔[由苏州湖桥生物科技有限公司提供，动物生产许可证号为 SCXK（苏）2020-0001，动物使用许可证号为 SYXK(苏)2020-0011]，体质量为 2.90～3.15 kg，随机分为实验组与假手术组，每组 5 只，实验组应用改良 No-touch 技术处理颈外静脉血管，并作颈总动脉、颈外静脉侧侧吻合。假手术组不吻合血管。实验试剂及器械：注射用盐酸替来他明盐酸唑拉西泮（舒泰®50，法国维克有限公司）、青霉素注射液（华北制药有限公司）、肝素钠注射液（江苏万邦制药有限公司）、飞利浦 EPIQ7 彩色多普勒超声诊断系统（飞利浦，荷兰）、显微外科器械（湖北康盛医疗有限公司）、I-STAT 雅培手持式血液分析仪（雅培，美国）。该研究方案经南京医科大学动物实验伦理委员会批准【南医大伦审（2021）311 号】，

chinaXiv:202103.00122v1

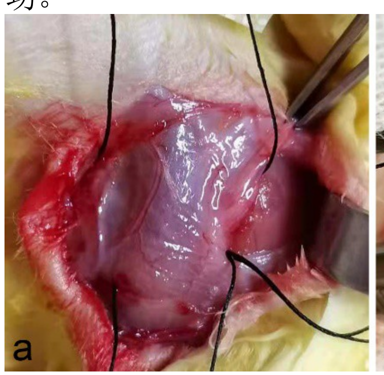
实验动物在麻醉下进行所有手术，并尽一切努力最大限度减少动物疼痛、痛苦和死亡。

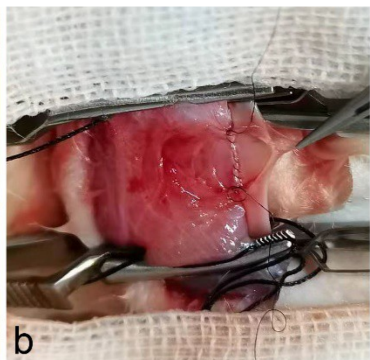
1.2、构建模型

1.2.1 麻醉与固定： 于兔耳缘静脉处注射舒泰®50 水溶液（5.0～7.5 mg/kg），3～5 min 后麻醉起效。待兔呼吸平稳、腹壁及四肢肌肉松弛、颈部皮肤夹捏及切开无抵抗，视该状态为麻醉深度得当。舒泰®50 水溶液作用时间为 20～60 min，术中可追加 1/3～1/2。兔取仰卧位固定于固定架上，绑带固定四肢及门齿。

1.2.2 处理颈外静脉及颈总动脉血管： 兔取仰卧位，颈部备皮，常规消毒、铺巾。于颈部中线右侧旁开 1 cm 作长约 4 cm 左右纵行切口，于下颌与胸骨上端之间切开皮肤。实验组应用改良 No-touch 技术寻找颈外静脉，可见颈外静脉血管及其分支呈倒"Y"型，取靠近颈部内侧分支血管，不剥离静脉周围结缔组织，仅在颈外静脉拟吻合区域两端分别放置 1 根 4-0 丝线，丝线位置距离静脉血管边界大于 5mm，两丝线间距约 2cm（图 2a），以便控制血流。沿胸锁乳突肌内缘分离胸骨舌骨肌与胸骨甲状肌之间的结缔组织，显露出颈总动脉，充分游离动脉组织约 2 cm，游离动脉时应注意避免损伤伴动脉深部走形的迷走神经及其分支。使用无损伤血管夹夹闭颈总动脉及颈外静脉两端血流。

1.2.3 动静脉侧侧吻合： 通过牵拉颈外静脉及颈总动脉，使两者靠近，于颈外静脉前壁剪一长约 4 mm 纵行切口，于颈总动脉血管前壁作一长约 4 mm 纵行切口，应用 Kulin 技术使用 7-0 不可吸收缝合线将颈总动脉及颈外静脉血管行侧侧吻合（图 2b）。吻合过程中注意全层缝合，避免缝合至对侧血管壁导致血管闭塞。因兔颈外静脉血管壁菲薄，注意操作轻柔，避免损伤血管。吻合过程中使用肝素生理盐水冲洗手术区域。吻合结束后，依次将静脉远心端、静脉近心端、动脉远心端、动脉近心端血管夹打开，使用 4-0 不可吸收缝合线结扎远心端颈外静脉血管，仅保留回心端流出道血管，使用无菌纱布局部压迫 1min 止血，可观察到颈外静脉段管腔充盈良好（图 2c），触及明显震颤，表示手术成功。





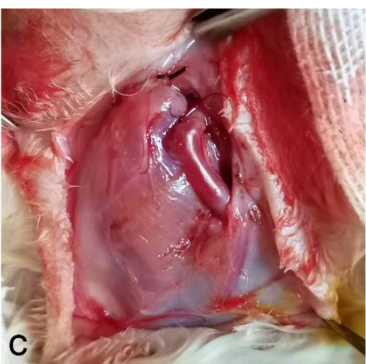


图 2. 应用改良 No-touch 技术构建颈总动脉-颈外静脉内瘘模型。**Fig.2** Rabbit model of common carotid artery - external jugular vein arteriovenous fistula created by a modified no-touch technique. a 颈外静脉外膜完整，不进行剥离；a. Tthe adventitia of the external jugular vein is intact and not dissected; b 侧侧吻合颈总动脉及颈外静脉。b. Side to side anastomosis of common carotid artery and external jugular vein. c 吻合成功，可见颈外静脉管腔充盈。 c. Anastomosis was successful with visible filling of the external jugular vein.

1.2.4.缝皮及术后处理： 观察术野无活动性出血，使用生理盐水局部冲洗手术区域，缝合皮肤。假手术组分别找出颈外静脉及颈总动脉，不处理血管，直接缝合皮肤。使用碘伏消毒切口部位皮肤。每只新西兰兔肌内注射青霉素 40 U，持续 3 d。

chinaXiv:202103.00122v1

chinaXiv:202103.00122v1

1.3、术后观察与评估

1.3.1 一般情况观察： 术后每日监测新西兰兔手术切口部位有无出血、感染，并记录兔饮食、活动、体质量及并发症等情况，听诊器每日听诊实验组兔 AVF 血管杂音情况。并记录建模的成功率与死亡率。

1.3.2 CDU 评估： 术后 14 d 使用带有 L12-5 探头（12 MHz）的 CDU 评估兔颈部血管，实验组记录内瘘流出道静脉内径、PSV、有无狭窄、血栓病变及颈总动脉内径、PSV。假手术组记录颈外静脉内径、PSV、有无狭窄、血栓病变及颈总动脉内径、PSV。

1.3.3 血气分析: 分别取实验组及假手术组颈外静脉血 0.5～1.0 ml，使用 I-STAT 雅培手持式血液分析仪测量实验组与假手术组兔颈外静脉血中的 PO_2 及 PCO_2。

1.3.4 H-E 染色光学显微镜观察: 术后 14 d 处死新西兰兔，取出 AVF 处血管组织，使用 10%的中性甲醛固定，石蜡包埋，切片厚度为 4 μm，行 H-E 染色，于光学显微镜下观察并进行图像采集，实验组观察内瘘流出道静脉病理变化情况，假手术组观察颈外静脉病理变化情况。应用 Image-Pro Plus 6.0（ Media Cybernetics，美国）软件进行内膜厚度的测定，以内弹性膜至血管腔的距离计算内膜厚度。

1.4、统计学方法

应用 SPSS 24.0 软件对所有数据进行分析。计量资料以 Mean±SD 表示，组间比较采用 *t* 检验。$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2.结　果

2.1、一般情况

本研究共纳入 5 只健康雄性新西兰兔使用改良 No-touch 技术完成 AVF 手术，手术均成功。术后 1～2 d，两组兔饮食及活动量均有所下降，切口处稍肿胀，无明显渗血。术后 3～5 d，各组兔饮食及活动均恢复至术前水平。术后第 8d 假手术组有 1 例兔死亡，其余实验组及假手术组兔无死亡及严重感染等并发症。术后每日使用听诊器监测内瘘杂音，实验组兔观察至 14d AVF 均保持通畅，成功率 100%。

2.2、CDU 评估

术后 14 d 应用 CDU 分别对 2 组兔进行评估，实验组可见 AVF 瘘口处血流通过，提示内瘘通畅（图 3a）。实验组兔颈总动脉彩色多普勒图像呈单向低阻血流频谱，失去正常三相血流，收缩期波峰变宽，舒张期血流丰富（图 3c）。实验组兔内瘘流出道静脉处，CDU 图像呈动脉样低阻血流频谱，PSV 增加，频谱增宽(图 3d)。在实验组兔内瘘动脉及流出道静脉观察到“双向血流”频谱，提示血流为螺旋层流(图 3e)。使用 CDU 测量颈总动脉内径、颈外静脉内径及 PSV，显示两组比较均有显著差异(图 3b、3f)。详见表 1。

chinaXiv:202103.00122v1

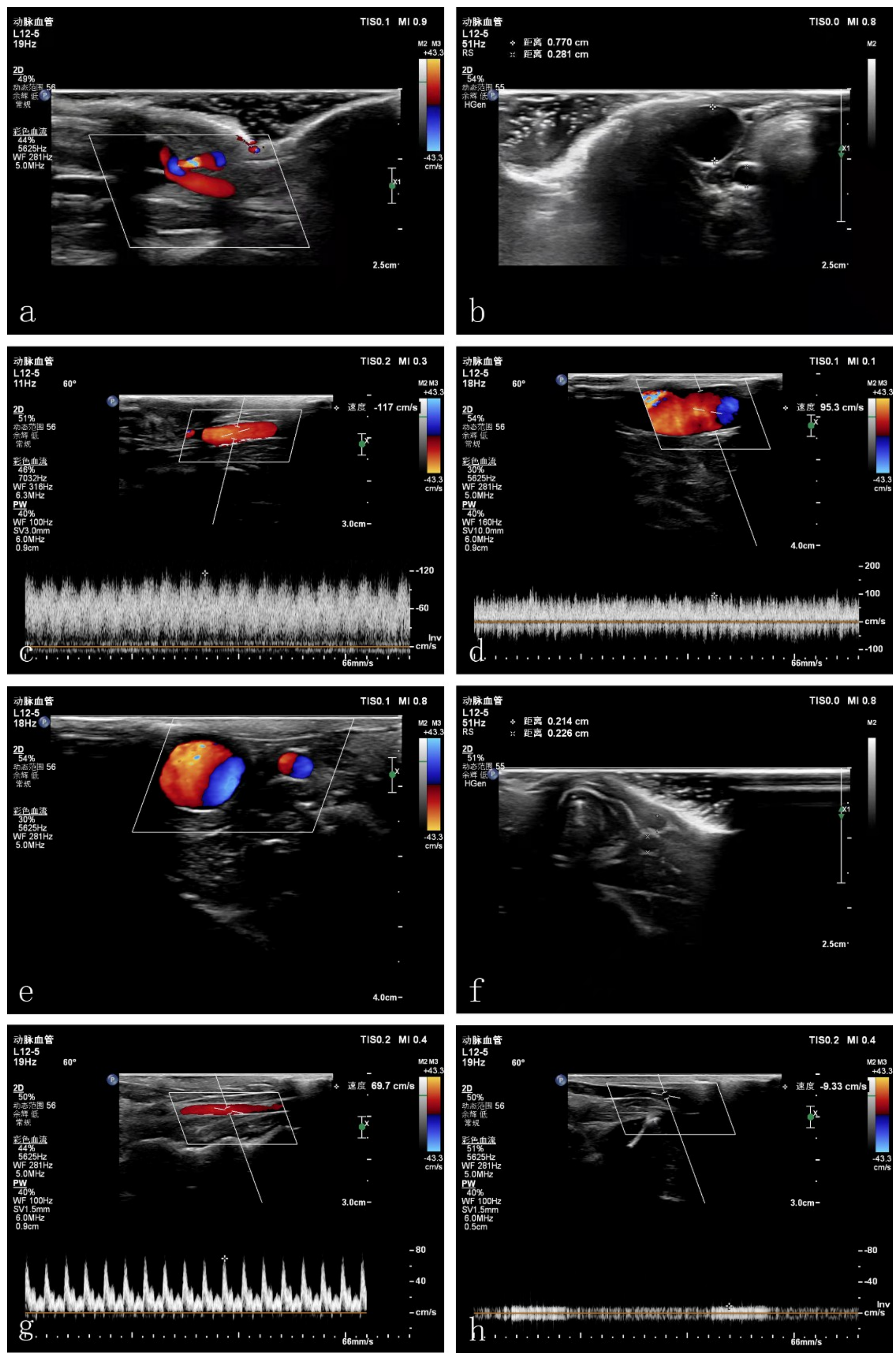


图 3. 彩色多普勒超声评估图谱。**Fig. 3** CDU evaluation atlas. a.实验组 AVF 吻合口血流通过；a. In experimental group, there was blood flow through the AVF anastomosis; b.实验组兔颈总动脉及流出道静脉明显扩张；b. In experimental group, the common carotid artery and outflow vein were dilated significantly; c. 实验组兔颈总动脉彩色多普勒血流频谱，显示失去正常三相血流，收缩期波峰变宽，舒张期血流丰富；c. The CDU blood flow spectrum of the common carotid artery in the experimental group showed that the normal three-phase blood flow was lost, the systolic peak was widened, and the diastolic blood flow was abundant. d.实验组兔内瘘流出道静脉彩色多普勒血流频谱，显示呈动脉样低阻血流，PSV 增加，频谱增宽；d. In experimental group, CDU blood flow spectrum showed of outflow tract vein

showed arterial low resistance flow, PSV increased and the frequency spectrum widened; e.实验组兔颈总动脉及流出道静脉彩色多普勒频谱呈“双向血流”; e. The CDU spectrum of common carotid artery and outflow tract vein in experimental group showed "towards-away flow"; f.假手术组兔颈总动脉及颈外静脉; f. Image of common carotid artery and external jugular vein in sham operation group; g.假手术组兔颈总动脉彩色多普勒血流频谱，显示正常动脉的三相血流; g. In sham operation group, the CDU blood flow spectrum of common carotid artery showed three-phase flow spectrum; h.假手术组兔颈外静脉彩色多普勒血流频谱，波形平缓，流速极低。h. In sham operation group, the CDU blood flow spectrum of external jugular vein was smooth and the flow velocity was very low.

表 1. 两组兔颈外静脉、颈总动脉内径及 PSV 比较（n=10）

Tab.1 The diameter and PSV of external jugular vein and common carotid artery were compared between two groups(n=10)

组别（group）	颈外静脉（external jugular vein）		颈总动脉（common carotid artery）	
	直径（mm） Diameter（mm）	PSV（cm/s）	直径（mm） Diameter（mm）	PSV（cm/s）
实验组（experimental group）	7.16±2.33	81.48±38.75	3.12±0.51	89.40±33.03
假手术组（sham operation group）	2.99±0.28	10.33±1.80	2.11±0.16	45.68±14.40
P	0.016	0.015	0.010	0.021
t	3.582	3.032	3.533	3.707

2.3、病理学观察

术后 14 d 取材观察，实验组兔内瘘均通畅。分别对实验组及假手术组兔颈外静脉组织取材，进行 H-E 染色，于光学显微镜下观察切片发现，假手术组（图 4a）兔颈外静脉内弹力膜完整，内膜薄，内膜厚度为（10.24±2.96）μm。实验组（图 4b）兔颈外静脉内弹力膜不完整，内膜增生，厚度为（26.36±3.77）μm，与假手术组比较差异具有统计学意义（$P < 0.001$）。

chinaXiv:202103.00122v1

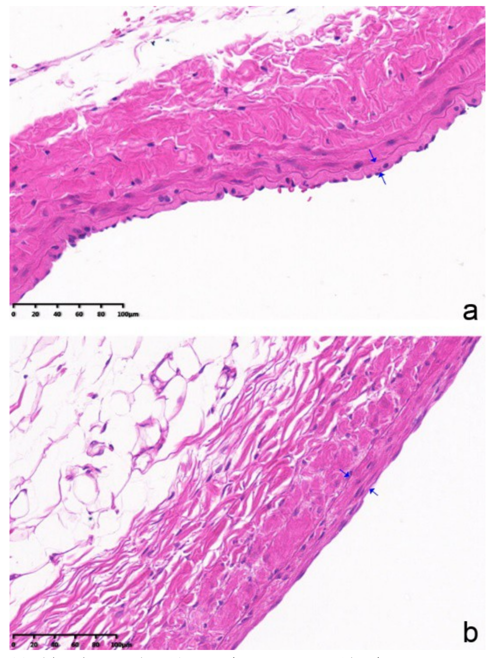


图 4. 新西兰兔术后 14d 颈外静脉形态学观察（H-E 染色，×200） **Fig.4** Morphological observation of external jugular vein in New Zealand rabbits 14 days after operation (H-E staining).。a.假手术组颈外静脉，内膜无增生（蓝色箭头所示）。a. There was no intimal hyperplasia of external jugular vein in sham operation group(blue arrow). b.实验组术后 14d 颈外静脉，可见内膜明显增生（蓝色箭头所示）。b. The intima of external jugular vein in experimental group was obviously proliferated at 14 days after operation (blue arrow).

2.4、血气分析结果

术后 14 d 血气分析结果表明，实验组兔颈外静脉血 PO_2 为（78.8±5.9）mmHg，假手术组兔颈外静脉血 PO_2 为（49.0±4.2）mmHg，差异具有统计学意义（P=0.006），而对两组间 PCO_2 的比较没有统计学差异(P=0.683)。

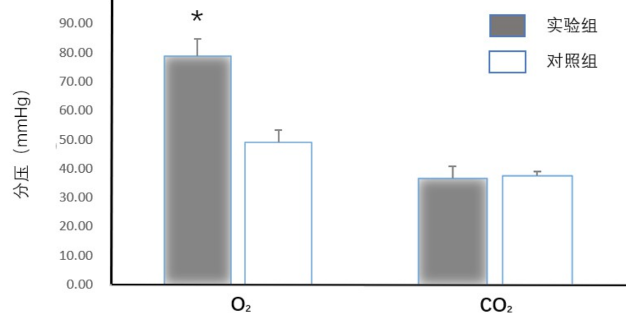


图 5 两组兔颈外静脉血 PO_2 与 PCO_2 比较 **Fig.5** Comparison of PO_2 and PCO_2 in external jugular vein between two groups

3.讨 论

AVF 作为血液透析患者首选血管通路在临床上广泛应用。然而，其早期不成熟率高，常见原因为 AVF 吻合口近 2 cm 内静脉狭窄。为减少手术操作对静脉血管的损伤，No-touch 技术在 CABG 获取大隐静脉时首先被应用，并通过保留静脉周围 3～5 mm 组织，减少静脉血管损伤、保护血管内皮完整性、减少血管活性因子的产生等途径，改善移植物血管的通畅率[12-14]。在 AVF 手术中，利用 No-touch 技术保留静脉周围 1～3 mm 组织，同样在一定程度上提高内瘘早期通畅率。为进一步减少静脉血管损伤，我们对拓展了 No-touch 技术的概念，在完全不剥离头静脉周围组织情况下，仅通过牵拉静脉和动脉使两者靠近，并作

chinaXiv:202103.00122v1

侧侧吻合，形成功能性端侧吻合。本研究应用改良 No-touch 技术成功建立了兔颈总动脉-颈外静脉内瘘模型。

在建立动物模型术中吻合血管时发现，由于保留了静脉周围组织，可以通过牵拉静脉周围组织使血管壁充分暴露，更有利于吻合。血管吻合过程中，夹闭静脉两端后仍可观察到静脉管壁渗血，提示静脉周围滋养血管未被破坏。血管吻合后瘘口极少渗血，可能是因为静脉周围结缔组织包裹了针孔和吻合口缝隙，使渗血减慢，达到止血的效果。术后 14 d，实验组兔颈外静脉血 PO_2 明显升高，提示动脉血流通过，表示内瘘通畅。使用彩色多普勒超声观察 AVF 血管内径、血流频谱，兔颈外静脉明显增粗，血流量增大，符合内瘘建立后流出道静脉管腔扩张变化规律。同时，CDU 观察到实验组兔颈动脉及流出道静脉内均可见“双向血流”，提示管腔内血流呈螺旋层流，有利于内瘘成熟[15]。对流出道静脉取材后行 H-E 染色发现，实验组兔颈外静脉管壁内膜增厚，内层弹力膜破坏，这可能是 AVF 建立成功后血管平滑肌细胞增殖、迁移的过程重要前提。

总之，本研究通过应用改良 No-touch 技术可成功建立兔颈总动脉-颈外静脉内瘘模型，操作简单、建模成功率高，重复性好，为进一步研究改良 No-touch 技术在动静脉内瘘手术中的应用提供理想的动物模型。但本研究观察时间较短，长期预后的影响仍需作进一步探讨。

chinaXiv:202103.00122v1

参考文献

[1]Lok CE, Huber TS, Lee T, et al. KDOQI Clinical Practice Guideline for Vascular Access: 2019 Update[J]. Am J Kidney Dis. 2020. 75(4 Suppl 2): S1-S164.

[2]Schmidli J, Widmer MK, Basile C, et al. Editor's Choice - Vascular Access: 2018 Clinical Practice Guidelines of the European Society for Vascular Surgery (ESVS) [J]. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2018. 55(6): 757-818.

[3]金其庄, 王玉柱, 叶朝阳, 施娅雪. 中国血液透析用血管通路专家共识(第 2 版) [J]. 中国血液净化. 2019. 18(06): 365-381.

[4]Roy-Chaudhury P, Sukhatme VP, Cheung AK. Hemodialysis vascular access dysfunction: a cellular and molecular viewpoint[J]. J Am Soc Nephrol. 2006. 17(4): 1112-27.

[5]Hu H, Patel S, Hanisch JJ, et al. Future research directions to improve fistula maturation and reduce access failure[J]. Semin Vasc Surg. 2016. 29(4): 153-171.

[6]Cunnane CV, Cunnane EM, Walsh MT. A Review of the Hemodynamic Factors Believed to Contribute to Vascular Access Dysfunction[J]. Cardiovasc Eng Technol. 2017. 8(3): 280-294.

[7]Souza DS, Christofferson RH, Bomfim V, et al. "No-touch" technique using saphenous vein harvested with its surrounding tissue for coronary artery bypass grafting maintains an intact endothelium[J]. Scand Cardiovasc J. 1999. 33(6): 323-9.

[8]华琨, 刘韬帅, 李扬, 等. 不接触大隐静脉获取技术在非体外循环冠状动脉旁路移植术中的短期效果[J]. 中华医学杂志. 2018. 98(20): 1601-1604.

[9]Hayashi I, Kashima I, Yoshikawa E. Use of the No-Touch Saphenous Vein Harvesting Technique via Small Incisions[J]. Innovations (Phila). 2020. 15(1): 81-84.

[10]付海霞, 焦自钊, 安茂竹, 等. 应用 No-touch 静脉分离技术构建前臂桡动脉-头静脉血管内瘘的临床效果[J]. 中国血液净化. 2018. 17(09): 637-640.

[11]Hörer TM, Skoog P, Quell R, et al. No-touch technique for radiocephalic arteriovenous fistula--surgical technique and preliminary results[J]. J Vasc Access. 2016. 17(1): 6-12.

[12]乐士冠, 肖健, 奚望, 等. 冠状动脉旁路移植术后静脉桥血管再狭窄的机制研究进展[J]. 第二军医大学学报. 2017. 38(05): 639-645.

[13]Fischer EC, Santana DB, Zócalo Y, et al. Effects of removing the adventitia on the mechanical properties of ovine femoral arteries in vivo and in vitro[J]. Circ J. 2010. 74(5): 1014-22.

[14]Loesch A, Dashwood MR. Vasa vasorum inside out/outside in communication: a potential role in the patency of saphenous vein coronary artery bypass grafts[J]. J Cell Commun Signal. 2018. 12(4): 631-643.

[15]Marie Y, Guy A, Tullett K, et al. Patterns of blood flow as a predictor of maturation of

arteriovenous fistula for haemodialysis[J]. J Vasc Access. 2014. 15(3): 169-74.
（通讯作者：侯国存 Email: houguocun2007@163.com）

作者贡献声明：

侯国存：提出研究思路，设计研究方案；
侯国存，刘振，王晓禾：进行实验；
侯国存，刘振，王晓禾，王加英，张元元：采集、清洗和分析数据；
侯国存，刘振，王晓禾：论文起草；
侯国存：论文最终版本修订。

chinaXiv:202103.00122v1